

90

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
FAKULTA RYBÁŘSTVÍ A OCHRANY VOD

**SOUPRAVA COMBI
TERÉNNÍ ANALÝZY VODY**

EDICE | METODIK



~~Sp11384~~

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
FAKULTA RYBÁŘSTVÍ A OCHRANY VOD
VÝZKUMNÝ ÚSTAV RYBÁŘSKÝ A HYDROBIOLOGICKÝ**

**SOUPRAVA COMBI – TERÉNNÍ ANALÝZY
VODY**

**O. VALENTOVÁ, J. MÁCHOVÁ, R. FAINA, H. KROUPOVÁ,
Z. SVOBODOVÁ**

č. 90

Vodňany

2009

ISBN 978-80-85887-90-7



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tato metodická publikace byla vydána (vytištěna) v rámci řešení projektu:

**Vzděláváním k posílení konkurenceschopnosti kapacit
jihočeského výzkumu a vývoje (CZ.1.07/2.3.00/09.0203)**

Obsahová část publikace byla zpracována za finanční podpory následujících projektů:

**Šetrné a efektivní hospodaření na rybnících s maximálním využitím
stávajícího trofického potenciálu a udržení dobré kvality vody i rybí
produkce
(MZe ČR NAZV QH82117)**

**Identifikace antropogenních tlaků v české části mezinárodního povodí řeky
Odry
(MŽP ČR SP/2e7/67/08)**

**Biologické, environmentální a chovatelské aspekty v rybářství
(výzkumný záměr MSM6007665809)**

Obsah

I. CÍL METODIKY	4
II. VLASTNÍ POPIS METODIKY	5
II.1 Návod pro práci se soupravou	5
II.1.1 Stanovení rozpuštěného kyslíku	8
II.1.2 Stanovení pH	9
II.1.3 Stanovení kyselinové neutralizační kapacity - KNK _{4,5} (dříve alkality)	9
II.1.4 Stanovení amoniakálního dusíku	10
II.1.5 Stanovení fosforečnanů	13
II.1.6 Stanovení dusitanů	13
II.1.7 Stanovení průhlednosti	14
II.2 Charakteristika a význam jednotlivých fyzikálně chemických parametrů kvality vody stanovitelných soupravou Combi	15
II.2.1 Kyslík	15
II.2.2 Hodnota pH	18
II.2.3 Kyselinová neutralizační kapacita (dříve alkalita)	19
II.2.4 Amoniakální dusík	20
II.2.5 Fosfor	23
II.2.6 Dusitany	23
II.2.7 Průhlednost	24
III. SROVNÁNÍ „NOVOSTI POSTUPŮ“	26
IV. POPIS UPLATNĚNÍ METODIKY	26
V. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	27
VI. SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE	27

I. CÍL METODIKY

Combi souprava pro terénní analýzy základních parametrů kvality vody není pro rybářskou odbornou veřejnost žádnou novinkou, neboť v malých obměnách a s rozdílným rozsahem analýz slouží rybářům již desítky let. První písemné zprávy o jednoduchých rozbořech vody, které lze provádět přímo v terénu, pocházejí z roku 1926 (Janeček, 1953). Od té doby souprava samozřejmě doznala řadu změn – mění se použité materiály i spektrum stanovení, ale smysl jejího použití zůstává.

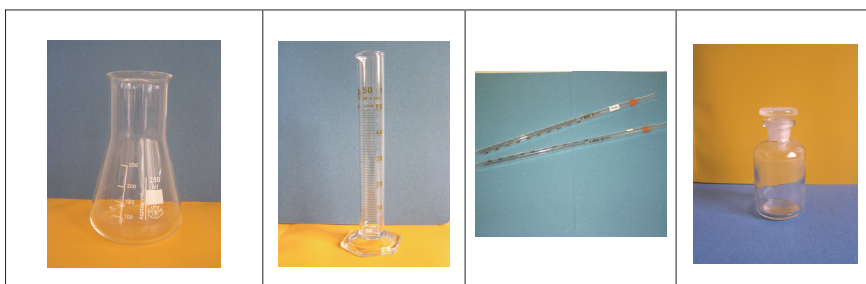
Složením soupravy, pro kterou jsme připravili uvedenou metodiku, se snažíme reagovat na měnící se potřeby rybářské praxe a současně respektovat zpřísňující se požadavky současné legislativy (zákon o chemických látkách č.356/2003 Sb.). Z těchto důvodů jsme spektrum analýz rozšířili o stanovení koncentrace dusitanů ve vodě, což využijí zejména chovatelé ryb v recirkulačních systémech. Pro uživatele, kteří nemají odbornou způsobilost pro nakládání s vysoce toxickými látkami, jsme byli nuceni nahradit stávající činidla pro stanovení koncentrace amoniakálního dusíku novými, které neobsahují vysoce toxickou látku - rtuť, obsaženou v Nesslerově činidle. Do soupravy jsme proto zařadili novou metodu stanovení amoniaku, která je distribuována firmou Merck a neobsahuje v činidlech látky vykazující vysoce toxické vlastnosti. Vzhledem k tomu, že se jedná o finančně náročnou záležitost, vycházíme současně vstříc uživatelům soupravy, kteří mají odbornou způsobilost pro výkon činností v rámci nakládání s nebezpečnými chemickými látkami a přípravy dle zákona č. 356/2003 Sb. Pro tyto uživatele jsme připraveni dodávat soupravu s původní metodou stanovení amoniakálního dusíku, tedy pomocí Nesslerova činidla a Seignettovy soli.

V předložené metodice jsou uvedeny principy jednotlivých metod a podrobně popsány návody pro jejich provádění. Metodika rovněž uvádí význam stanovovaných parametrů z hlediska chovu ryb a souvislosti mezi nimi. Cílem metodiky je poskytnout uživatelům takové informace, aby byli schopni nejen provést analýzy vody, ale také správně vyhodnotit získané výsledky.

II. VLASTNÍ POPIS METODIKY

II.1 Návod pro práci se soupravou

Součástí soupravy jsou následující pomůcky a chemické nádoby:

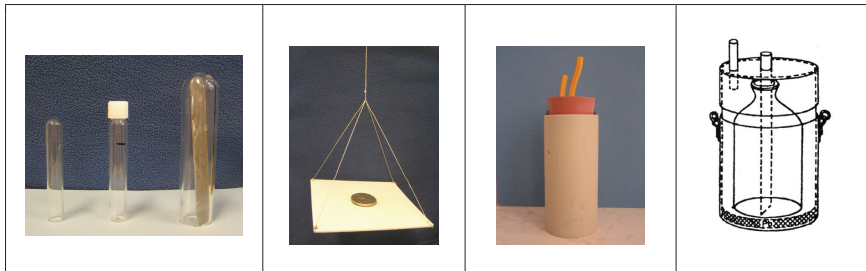


titrační baňka
(z technických důvodů je
v soupravě pro titraci
používána Erlenmayerova
baňka)

odměrný válec

pipety

kyslíková lahvička



zkumavky
1) stanovení pH
2) stanovení dusitanů
3) stanovení fosforečnanů
a amoniakálního dusíku
(při stanovení
fosforečnanů se vzorek
s čínidly míchá cínovou
destičkou)

Seccchio deska

Hrbáčkovo odběrové zařízení
(foto a schéma)

Schéma rozložení činidel a pomůcek kompletní sestavy COMBI soupravy
(verze s použitím Nesslerova činidla pro stanovení amonných iontů)

SECCIHO DESKA						
TITRAČNÍ BAŇKA	KYSLÍK 1	KYSLÍK 2	KYSLÍK 5	pH		FOSFOREČNANY
	Chlorid manganatý	Alkalický jodid	Thiosíran sodný 0,02M	zkušmavka	zkušmavka	
HRBÁČKOVO ODBĚRNÉ ZARÍZENÍ s kyslíkovou lahvičkou	KYSLÍK 3	KYSLÍK 4	pH	AMONIAK 1	AMONIAK 2	AMONIAK 2
	Kyselina sírová 1:4	škrob	univerzální indikátor	Seignetova sůl	Nesslerovo činidlo	Nesslerovo činidlo
	KYSLÍK	ALKALITA 1	ALKALITA 2	DUSITANY	DUSITANY 1	DUSITANY 2
	Kyslíková lahvička 50 ml	Směsný indikátor	Kyselina chlorovodíková 0,1M	zkušmavka	Roztok č.1 Kyselina sulíamiová	Roztok č.2 NED



Důležité upozornění: Mobilní analytická Combi souprava pro terénní rozbor základních hydrochemických ukazatelů obsahuje chemické roztoky s nebezpečnými vlastnostmi, a proto je nutné při manipulaci s nimi dbát zvýšené opatrnosti. Při styku některého z obsažených činidel (kromě škrobu) s kůží omývejte zasažené místo velkým množstvím vody. Při vniknutí do očí okamžitě vyplachujte velkým množstvím vody a neprodleně vyhledejte lékařskou pomoc.

Soupravu chraňte před dětmi a nepovolanými osobami!

Soupravu udržujte v čistotě! Nezaměňujte zátky mezi jednotlivými činidly. Po použití vymyjte sklo (zkumavky, válec, pipety) vodovodní (příp. destilovanou) vodou. Zábrousové zátky indikátorových lahvíček je vhodné občas potřít slabou vrstvou mazacího tuku. Soupravu skladujte uzavřenou. Chraňte roztoky před mrazem a před přímým slunečním světlem.

Doporučení: Při výjezdu do terénu s Combi soupravou nezapomeňte přibrat láhev s destilovanou či vodovodní vodou, kterou lze použít k případnému ředění vzorku (viz popisy příslušných metod). Láhev s čistou vodou je třeba mít k dispozici rovněž z bezpečnostních důvodů pro případ náhodného zasažení očí některým z obsažených činidel.

Součástí každé soupravy jsou návody pro jednotlivá stanovení včetně bezpečnostních informací o použitých činidlech.

Lahvičky s jednotlivými chemickými roztoky jsou označeny názvem zkoušky, názvem chemického roztoku a symboly o nebezpečných vlastnostech daného roztoku vyjádřené obrazovým symbolem nebezpečnosti (piktogramem), písmenným označením nebezpečné vlastnosti a R-větami a dále pokyny pro bezpečné nakládání vyjádřené S- větami.

Příklad:

DUSITANY
Kyselina sulfanilová



R: 36/38-43
S: 24-37

PÍSMENNÉ OZNAČENÍ NEBEZPEČNÉ VLASTNOSTI – klasifikuje nebezpečné vlastnosti chemické látky, např. **Xi** = dráždivý.

R-VĚTY – Jednoduché R-věty, Kombinované R-věty

R-věty jsou standardní věty označující specifickou rizikovost nebezpečných chemických látek a přípravků, které vykazují jednu nebo více nebezpečných vlastností. R-věty a jejich znění se řídí zákonem č. 356/2003 o chemických látkách a chemických přípravcích a evropskou směrnicí Rady 67/548/EEC o sblížení zákonů, právních předpisů a správních opatření týkajících se klasifikace, balení a označování nebezpečných látek.

S-VĚTY - Jednoduché S-věty, Kombinované S-věty

S-věty jsou standardní pokyny pro bezpečné nakládání s nebezpečnými chemickými látkami a přípravky.

Souprava umožňuje v kompletní sestavě (nebo v sestavě upravené v libovolném výběru dle přání zákazníka) stanovení následujících fyzikálních a chemických ukazatelů kvality vody.

II.1.1 Stanovení rozpuštěného kyslíku

Titrační jodometrické stanovení rozpuštěného kyslíku Winklerovou metodou:

Princip metody: rozpuštěný kyslík reaguje s hydroxidem manganatým v alkalickém prostředí za vzniku ekvivalentního množství hydroxidu manganitého. Po okyselení vzorku a po přidávku jodidu přechází opět na ion manganatý a přitom jodid oxiduje na ekvivalentní množství jodu. Jod se stanoví titrací odměrným roztokem thiosíranu (sirnatanu) na škrob jako indikátor. Kyslík se tedy stanoví nepřímou, a sice jako jod (Horáková et al., 2003).

Bezpečnostní informace o činidlech pro stanovení kyslíku:

Chlorid manganatý (MnCl ₂ 42,5% roztok) –	X _n = zdraví škodlivý R: 22 zdraví škodlivý při požití R: 36/37/38 dráždí oči, dýchací orgány a kůži R: 40 podezření na karcinogenní účinky S: 26 při zasažení očí okamžitě důkladně vypláchněte vodou a vyhledejte lékařskou pomoc S: 36/37/39 použijte vhodný ochranný oděv, ochranné rukavice a ochranné brýle nebo obličejový štít
Alkalický jodid (směs: 50% roztok NaOH + 15% roztok KI + 1% roztok NaN ₃) – C = žíravý	R: 35 způsobuje těžké poleptání S: 26 při zasažení očí okamžitě důkladně vypláchněte vodou a vyhledejte lékařskou pomoc S: 37/39 použijte vhodné ochranné rukavice a ochranné brýle nebo obličejový štít S: 45 v případě nehody, nebo necítíte-li se dobře, okamžitě vyhledejte lékařskou pomoc
Kyselina sírová (H ₂ SO ₄ , ředěná 1:4) –	C = žíravý R: 35 způsobuje těžké poleptání S: 26 při zasažení očí okamžitě důkladně vypláchněte vodou a vyhledejte lékařskou pomoc S: 45 v případě nehody, nebo necítíte-li se dobře, okamžitě vyhledejte lékařskou pomoc
Thiosíran (sirnatan) sodný 0,02M –	není nebezpečnou látkou ve smyslu zákona č. 356/2003 Sb.
Škrob (0,5% roztok) –	není nebezpečnou látkou ve smyslu zákona č. 356/2003 Sb.

Postup stanovení:

Kyslík se stanoví nebo fixuje na místě odběru. Fixovaný vzorek musí uchovat v temnu a zpracovat do 24 hodin.

Do kyslíkové lahvičky o objemu 50 ml umístěné v odběrném Hrbáčkově zařízení odebereme vzorek vody. Kyslíkovou lahvičku vyjmeme, zátkou vytlačíme přebytečnou vodu, přidáme 0,5 ml chloridu manganatého a 0,5 ml alkalického jodidu (*žíravina*). Lahvičku uzavřeme a opakovaným převracením obsah dokonale promícháme. Tím je vzorek nafižován a v dalším postupu je možno pokračovat do 24 hodin za předpokladu, že je vzorek uchován v chladnu a temnu. Dále v práci pokračujeme následujícím způsobem. Po usazení sraženiny lahvičku otevřeme a přidáme 2 ml kyseliny sírové 1:4 (*žíravina*). Lahvičku opět uzavřeme a převracením mícháme až do úplného rozpuštění sraženiny. Ze žluté zbarveného roztoku v kyslíkové lahvičce odebereme odměrným válcem 50 ml a převedeme do titrační baňky. Přidáme 0,5 ml škrobového indikátoru (roztok se zbarví do tmavomodra). Do dělené pipety opatrně nasajeme přesně 10 ml 0,02M sirnatu sodného, který po kapkách přidáváme

(titrujeme) do odbarvení roztoku, v momentě odbarvení roztoku odečteme spotřebu sirnatanu. Během titrace neustále krouživým pohybem promícháváme obsah titrační baňky.

Výpočet koncentrace rozpuštěného kyslíku: spotřebu sirnatanu v mililitrech vynásobíme koeficientem 3,2 a získáme tak výslednou hodnotu kyslíku v mg/l.

(Př.: spotřeba sirnatanu činila 2,8 ml, výsledná hodnota je $2,8 \times 3,2 = 8,96$ mg/l)

II.1.2 Stanovení pH

Princip měření: kolorimetrie, využívající barevnou změnu univerzálního indikátoru pro orientační stanovení pH v rozmezí hodnot 5,9 – 10,1.

Bezpečnostní informace o činidlech pro stanovení pH

Směs indikátorů (fenolftalein Xn, R:40; o-kresolfalein; bromthymolová modř; methylčerveně; methyloranž T, R: 25) rozpuštěných v methanolu: F, T, R:11, R:23/24/25, R39/23/24/25, S:7, S:16, S:36/37, S:45.

Xn = zdraví škodlivý

T = toxický

F = vysoce hořlavý

R:11 vysoce hořlavý

R: 23/24/25 toxický při vdechování, styku s kůží a při požití

R: 39/23/24/25 toxický: nebezpečí velmi vážných nevratných účinků při vdechování, styku s kůží a při požití

R: 40 podezření na karcinogenní účinky

S: 7 uchovávejte obal těsně uzavřený

S: 16 uchovávejte mimo dosah zdrojů zapálení – zákaz kouření

S: 36/37 používejte vhodný ochranný oděv a ochranné rukavice

S: 45 v případě nehody nebo necítíte-li se dobře, okamžitě vyhledejte lékařskou pomoc

Postup stanovení:

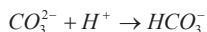
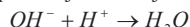
Do zkumavky se odměří 1-2 kapky roztoku indikátoru, přidá se odměrným válcem 10 ml vzorku vody, obsah zkumavky se promíchá a zbarvení roztoku se porovná s barevnými poličky stupnice. Vyhodnocení se provádí při rozptýleném denním světle. Při porovnání s barevnou stupnicí se drží zkumavka kolmo asi ve vzdálenosti 5 cm od bílé podložky. Hodnota pH vzorku je dána údajem pod barevným poličkem stupnice, která se shoduje se zbarvením roztoku vzorku. Pokud se zbarvení roztoku vzorku neshoduje přímo s některým z barevných poliček stupnice, provede se vyhodnocení pH vzorku průměrem (extrapolací) ze dvou nejbližších hodnot barevné stupnice.

Barevná škála pro orientační stanovení pH včetně výše popsaného pracovního postupu je součástí Combi soupravy.

II.1.3 Stanovení kyselinové neutralizační kapacity - KNK_{4,5} (dřívě alkality)

Princip metody: KNK_{4,5} (celková alkalita) se stanovuje titrací vzorku vody odměrným roztokem HCl o koncentraci 0,1 mol.l⁻¹ na směsný indikátor.

Při stanovení probíhají následující reakce:



Poznámka: pokud je pH vody větší než 8,3, probíhají při titraci vzorku všechny tři reakce, pokud se pH vody pohybuje v rozmezí 4,5 – 8,3, probíhá pouze reakce charakterizovaná třetí rovnicí.

Bezpečnostní informace o činidlech pro stanovení KNK_{4,5}:

Kyselina chlorovodíková (0,1M HCl) – C = žiravá, X_i = dráždivá
R: 34 způsobuje poleptání
R: 37 dráždí dýchací orgány
Směsný indikátor (methylčerven + bromkresolová zeleň v ethanolu) – F = vysoce hořlavý
R: 11 vysoce hořlavý
S: 7 uchovávejte obal těsně uzavřený
S: 16 uchovávejte mimo dosah zdrojů zapálení – zákaz kouření

Postup stanovení:

Do titrační baňky odměříme válcem 100 ml vzorku vody, přidáme 5 kapek směsného indikátoru na alkalitu. Do dělené pipety opatrně nasajeme přesně 10 ml 0,1M kyseliny chlorovodíkové (*žiravina*), kterou po kapkách přidáváme (titrujeme) do vínově červeného zbarvení roztoku, v momentě změny barvy se odečte spotřeba kyseliny chlorovodíkové. Během titrace neustále krouživým pohybem promícháváme obsah titrační baňky.

Výsledná hodnota KNK_{4,5}: spotřeba 0,1M-HCl v mililitrech odpovídá hodnotě KNK_{4,5} v mmol/l

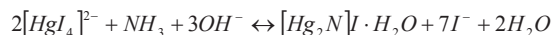
II.1.4 Stanovení amoniakálního dusíku

Amoniakální dusík se vyskytuje ve vodách jako disociovaný ion NH₄⁺ a nedisociovaný NH₃. Podíl těchto dvou forem výskytu závisí na hodnotě pH vody a na teplotě vody. (Například: při teplotě 20 °C a při pH 7 a nižším se vyskytuje pouze forma NH₄⁺, při pH vyšším než 10,5 převažuje volný NH₃). Používanými analytickými postupy se nerozliší obsah disociovaného a nedisociovaného amoniaku ve vodě, ale stanoví se vždy součet obou forem NH₃ + NH₄⁺ (Horáková et al., 2003). Koncentrace amoniakálního dusíku ve vodě se vyjadřuje hmotnostní koncentrací v mg.l⁻¹.

a) Stanovení s Nesslerovým činidlem: pro uživatele s doloženým dokladem o odborné způsobilosti pro výkon činnosti v rámci nakládání s nebezpečnými chemickými látkami a přípravky dle zákona č. 356/2003 Sb.

Výhoda metody: pracovní a časová nenáročnost
Nevýhoda: práce s látkou vysoce toxickou (rtuťnatou solí)

Princip metody: Stanovení je založeno na reakci amoniaku a hydroxidu alkalických kovů s tetrajodortuťnatanem sodným nebo draselným za vzniku jodidu tzv. Millonovy báze (oxidimerkuriaminjodidu).



Uvedený jodid je málo rozpustná žlutohnědá sloučenina, která při nízkých koncentracích amoniaku vytváří žlutohnědé koloidní roztoky vhodné pro fotometrické měření nebo pro srovnání s barevnou škálou (Horáková at al., 1986).

Bezpečnostní informace o činidlech pro stanovení amoniaku s Nesslerovým činidlem:

Seignetova sůl (vinan draselno-sodný, 50% roztok): - není nebezpečnou látkou ve smyslu zákona č. 356/2003 Sb.

Nesslerovo činidlo –

T⁺ = vysoce toxický
N = nebezpečný pro životní prostředí
R: 26/27/28 vysoce toxický při vdechování, styku s kůží a při požití
R: 33 nebezpečí kumulativních účinků
R: 35 způsobuje těžké poleptání
R: 50/53 vysoce toxický pro vodní organismy, může vyvolat dlouhodobé nepříznivé účinky ve vodním prostředí
S: 13 uchovávejte odděleně od potravin, nápojů a krmiv
S: 26 při zasažení očí okamžitě důkladně vypláchněte vodou a vyhledejte lékařskou pomoc
S: 28 při styku s kůží okamžitě omyjte velkým množstvím vody
S: 36/37/39 použijte vhodný ochranný oděv, ochranné rukavice a ochranné brýle
S: 45 v případě nehody, nebo necítíte-li se dobře, okamžitě vyhledejte lékařskou pomoc
S: 60 tento materiál a jeho obal musí být zneškodněn jako nebezpečný odpad

Postup stanovení:

K 50 ml vzorku ve zkumavce o Ø 30 mm se přidají 2 kapky Seignetovy soli a 1 ml Nesslerova činidla. Vzorek s činidly se promíchá a po 10 minutách se vyhodnotí intenzita zabarvení následujícím způsobem: návod se položí na vodorovnou plochu, kolmo k němu ve vzdálenosti cca 5 cm se drží zkumavka s vybarveným roztokem a zbarvení se porovnává s barevnou škálou.

Barevná škála pro orientační stanovení amoniakálního dusíku včetně výše popsaného pracovního postupu je součástí Combi soupravy.

Doporučení: Dosáhne-li intenzita vybarvení vzorku nejvyššího bodu barevné škály, je vhodné vzorek naředit destilovanou (případně pitnou vodou) a zkoušku zopakovat s naředěným vzorkem. Poté vybarvený vzorek opětovně porovnat s příloženou škálou a zjištěnou hodnotu vynásobit příslušným ředěním.

b) Stanovení s Amonium testem (dodávaným firmou MERCK) *pro uživatele bez dokladu o odborné způsobilosti pro výkon činností v rámci nakládání s nebezpečnými chemickými látkami a přípravky dle zákona č. 356/2003 Sb.*

Princip metody: v silně alkalickém prostředí reaguje amoniak s chloračním činidlem na monochloramin, ten postupně reaguje s thymolem do formy modrého indofenolu vhodného pro fotometrické měření nebo pro srovnání s barevnou škálou. Reakce je katalyzována nitroprusidem sodným.

Obecné pokyny pro práci s testovací sadou:

Návod ke stanovení je nutno přesně dodržet, a to včetně reakční doby. Činidla nesmějí být mezi sebou vzájemně znečišťována, ani ředěna vodou či vzorkem. Mikrolžičky ve víčku jsou

určeny vždy jen pro dané činidlo, pokud dojde k jejich potřísnění vzorkem, je nutné je vyčistit a vysušit. Testovací sadu je třeba skladovat v rozmezí teplot +15 °C až +25 °C a lahvičky s činidly musí být stále uzavřeny. Doba maximální použitelnosti je uvedena na obalu.

Upozornění: vzhledem k velikosti této testovací sady nebude v případě kompletní sestavy Combi soupravy pro všechna nabízená stanovení zabudována tato sada přímo do soupravy, ale dodávána jako samostatná součást.

Postup stanovení (převzato od výrobce, firmy Merck)

Otevřít krabičku - vyjmout celý polystyrenový blok s činidly a vložit jej do víčka tak, aby květy (prázdné lahvičky s víčkem) byly po levé ruce – barevnou kartu vložit do otvoru ve dně víčka z pravé strany ve směru šipek s uvedenou koncentrační řadou (barevná škála je pod polystyrenovým blokem)			
	Měřený vzorek (bližší květa nad bílým políčkem barevné škály)	Slepý vzorek (květa nad barevnou škálou)	
Předupravený vzorek (vytemperovaný 20-30 °C)	5 ml	5 ml	
čínidlo NH ₄ -1 (obsahuje NaOH)	0,4 ml	-	Přidat zelenou stříkačkou, zavřít květu a promíchat
čínidlo NH ₄ -2	1 zarovnaná modrá mikrolžička (ve víčku lahvičky s činidlem NH ₄ -2)	-	Přidat, uzavřít květu a důkladně promíchat až do úplného rozpuštění čínidel
Nechat stát 5 minut (reakční čas A)			
Čínidlo NH ₄ -3 (obsahuje nitroprussid sodný)	4 kapky (lahvičku s činidlem držet svisle)	-	Přidat, uzavřít květu a promíchat
Nechat stát přesně 7 minut (reakční čas B)			
Po uplynutí reakční doby porovnat zbarvení vzorku se slepým stanovením pohledem shora a kartu s barevnou škálou posouvat doleva až do okamžiku, kdy se intenzita zbarvení vzorku nad bílým políčkem co nejvíce přibližuje slepému vzorku nad barevnou škálou. Výsledek v mg.l ⁻¹ NH ₄ ⁺ nebo v mg.l ⁻¹ NH ₄ ⁺ -N pak odečíst vpravo (intenzitě zbarvení odpovídá hodnota nejbližze hraně krabičky). Pokud je to nutné, uvede se průměrná koncentrace vypočtená ze dvou po sobě jdoucích hodnot, jimž se nejvíce přibližuje intenzita zbarvení vzorku.			

II.1.5. Stanovení fosforečnanů

Princip metody: Stanovení je založeno na reakci orthofosforečnanů s molybdenanem amonným v prostředí kyseliny sírové a následné redukci vzniklého komplexu kyseliny molybdatofosforečné na fosfomolybdenovou modř. Jako redukční činidlo je použit cín.

Bezpečnostní informace o činidlech pro stanovení fosforečnanů:

Molybdenanové činidlo (směs 2,5% molybdenanu amonného a kyseliny sírové ředěné 1:3) – Xi = dráždivý,

C = žíravý

R: 36/37/38 dráždí oči, dýchací orgány a kůži

R: 35 způsobuje těžké poleptání

S: 26 při zasažení očí okamžitě důkladně vypláchněte

vodou a vyhledejte lékařskou pomoc

S: 36 použijte vhodný ochranný oděv

S: 45 v případě nehody, nebo necítíte-li se dobře, okamžitě

vyhledejte lékařskou pomoc

S: 61 zabraňte uvolnění do životního prostředí

Postup stanovení:

K 50 ml vzorku ve zkumavce o Ø 30 mm se přidá 10 kapek molybdenanu amonného. Vzorek se promíchá cínovou destičkou a po 5 minutách se vyhodnotí intenzita zabarvení následujícím způsobem: návod se položí na vodorovnou plochu, kolmo k němu se ve vzdálenosti cca 5 cm nad bílou plochou papíru drží zkumavka s vybarveným roztokem a zbarvení se porovnává s barevnou škálou.

Barevná škála pro orientační stanovení fosforečnanů včetně výše popsaného pracovního postupu je součástí Combi soupravy.

Doporučení: Dosáhne-li intenzita vybarvení vzorku nejvyššího bodu barevné škály, je vhodné vzorek naředit destilovanou (případně pitnou) vodou a zkoušku zopakovat s naředěným vzorkem. Poté vybarvený vzorek opětovně porovnat s příloženou škálou a zjištěnou hodnotu vynásobit příslušným ředěním.

II.1.6 Stanovení dusitanů

Dusitany jsou ve vodě velmi nestálé, proto je nutno vzorky vody analyzovat ihned po odběru.

Princip metody: Kyselina sulfanilová je diazotována v prostředí hydrogensíranu sodného kyselinou dusitou (z dusitanů ve vzorku) na diazoniovou sůl. Vzniklá diazoniovaná sůl je kopulována s NED-hydrochloridem na červené azobarvivo. Intenzita vzniklého zbarvení je úměrná koncentraci dusitanů ve vzorku (Horáková et al., 2003).

Bezpečnostní informace o činidlech pro stanovení dusitanů:

roztok č. 1: kyselina sulfanilová –

Xi = dráždivá

R: 36/38 dráždí oči a kůži

R: 43 může vyvolat senzibilizaci při styku s kůží

S: 24 zamezte styku s kůží

S: 37 použijte vhodné ochranné rukavice

roztok č. 2: NED (N-(1-naftyl)-ethylendiamindihydrochlorid - Xi = dráždivý

R: 36/37/38 dráždí oči, dýchací orgány a kůži

S: 26 při zasažení očí okamžitě důkladně vypláchněte vodou a vyhledejte lékařskou pomoc
S: 36 používejte vhodný ochranný oděv

Upozornění: roztok NED se uchovává ve tmě a je stálý asi 1 měsíc.

Postup stanovení:

Vzorek vody se odebere do zkumavky s bílým plastovým víčkem po vyznačenou rysku (10 ml). Přidá se 10 kapek kyseliny sulfanilové (roztok č. 1), vzorek se promíchá a po 5 minutách se přidá 10 kapek NED (roztok č.2). *Nutno dodržet uvedené pořadí dávkovaných roztoků!* Vzorek se opět promíchá a nechá se 10 minut stát do vytvoření zbarvení, které je stálé 24 hodin. Intenzita zbarvení se vyhodnotí následujícím způsobem: návod s barevnou škálou se drží ve svislé poloze ve výši očí a druhou rukou se přiloží zkumavka rovnoběžně s návodem ve vzdálenosti zhruba 5 cm od bílé části papíru. Zbarvení roztoku ve zkumavce se potom porovnává s barevnou škálou.

Barevná škála pro orientační stanovení dusitanů včetně výše popsaneho pracovního postupu je součástí Combi soupravy.

Doporučení: Dosáhne-li intenzita vybarvení vzorku nejvyššího bodu barevné škály, je vhodné vzorek naředit destilovanou (případně pitnou vodou) a zkoušku zopakovat s naředěným vzorkem. Poté vybarvený vzorek opětovně porovnat s příloženou škálou a zjištěnou hodnotu vynásobit příslušným ředěním.

II.1.7. Stanovení průhlednosti

Princip měření: zjištění průhlednosti se zkušební (Secchiho) deskou měřením hloubky vody, ve které již není viditelná bílá deska, připevněná na závěsu s vyznačenými hodnotami délky v cm (Horáková, 2003).

Postup stanovení:

Secchiho deska se spouští do vody tak hluboko, kdy je při pohledu shora právě postřehnutelná. Doporučuje se měření několikrát opakovat a hloubku zjišťovat jak při pohybu desky shora dolů, tak při pohybu zdola nahoru. Zaznamená se délka ponořeného závěsu.

II. 2 Charakteristika a význam jednotlivých fyzikálně chemických parametrů kvality vody stanovitelných soupravou Combi

II.2.1 Kyslík

Přítomnost kyslíku ve vodě patří k základním podmínkám pro možnost přežívání ryb i jejich potravních organismů. Absence kyslíku nebo jeho nedostatečná koncentrace je velmi častou příčinou havarijních úhynů ryb.

Koncentrace rozpuštěného kyslíku ve vodě ovlivňuje formy výskytu různých látek ve vodě i jejich toxicitu pro vodní organismy (výrazná závislost byla prokázána např. u amoniakálního dusíku) (Pitter, 1999, Svobodová et al., 1987).

Rozpustnost kyslíku ve vodě (a rozpustnost plynů v kapalinách obecně) je dána **Henryho zákonem** a je ovlivňována zejména atmosférickým tlakem a teplotou vody (Pitter, 1999). Proto se koncentrace rozpuštěného kyslíku ve vodě udává nejen v absolutních hodnotách - v $\text{mg.l}^{-1} \text{O}_2$, ale také v relativních hodnotách - v **% nasycení**. To znamená, že zjištěná koncentrace rozpuštěného kyslíku se porovnává s tzv. **rovnovážnou koncentrací**. To je koncentrace, která odpovídá za daných podmínek rozpustnosti kyslíku ve vodě - tedy stoprocentnímu nasycení vody kyslíkem.

Jestliže je naměřená koncentrace rozpuštěného kyslíku nižší, než by odpovídalo 100% nasycení, mluvíme o **kyslíkovém deficitu** (je to koncentrace kyslíku chybějící při dané teplotě k jejímu nasycení). Naopak, jestliže je zjištěná koncentrace vyšší, než by odpovídalo 100% nasycení, mluvíme o **přesycení** vody **kyslíkem** (tj. záporný kyslíkový deficit). (Dále viz ukázka výpočtů).

V povrchových vodách kolísá koncentrace kyslíku podle toho, zda jde o tok, nebo o nádrž či jezero a dále závisí na organickém znečištění vody, protože biochemickými rozkladnými procesy se kyslík z vody odčerpává. V tocích se nasycení vody kyslíkem pohybuje obvykle v rozmezí 85 – 95 % (deficit kyslíku je zde 5 – 15 %). Naopak k přesycení vody kyslíkem dochází na turbulentních místech toku nebo při fotosyntetické asimilaci zelených organismů přítomných ve vodě (Pitter, 2009).

U vod organicky znečištěných se může koncentrace rozpuštěného kyslíku v důsledku rozkladných biologických procesů značně zmenšovat a v extrémním případě může poklesnout až na nulovou hodnotu.

Jestliže je přesycení vody kyslíkem způsobeno fotosyntetickou asimilací organismů, je nutné sledovat množství rozpuštěného kyslíku v nočních hodinách, kdy zmíněné organismy neprodukují kyslík, ale naopak jej spotřebovávají disimilací. V důsledku toho dochází často k nočním kyslíkovým deficitům, přestože denní hodnoty vykazují přesycení. Pokud tedy chceme zachytit ve vodách se silným vegetačním základem kritické hodnoty koncentrace kyslíku, je nutno toto stanovení provést ještě před východem slunce.

Na druhé straně však i přesycení vody kyslíkem může ryby (zejména plůdek) poškodit. Takový případ byl zaznamenán při transportu váčkového plůdku marény, kdy bylo v přepravních polyetylenových vacích zaznamenáno přesycení vody kyslíkem ve výši cca 400 %. Přepravený plůdek se sice rozplaval, ale později byl zaznamenán téměř stoprocentní úhyn. Podle Luckého (1986) je kritická hodnota nasycení vody kyslíkem z hlediska bezpečnosti pro ryby 250-300 %. Při překročení této hodnoty nastává poškození ryb, postižené ryby mají žábry nápadně světle červené a okraje žaberních lístků roztržené. Po vysazení ryb dochází k sekundárnímu zaplnění a ojedinele k hynutí.

Důležité upozornění: kyslík ve vodě nelze v laboratoři stanovit v běžně odebraném vzorku vody, neboť jeho obsah se díky dále probíhajícím biologickým a biochemickým pochodům velmi rychle mění. Proto je nutné vzorek vody na stanovení kyslíku odebrat tak, jak je uvedeno v návodu. V žádném případě není možno přelévat vzorek vody odebraný pro následné laboratorní vyšetření do kyslíkových lahvíček (zejména u vod vykazujících kyslíkový deficit by mohlo dojít k jejich obohacení kyslíkem ze vzduchu).

Z výše uvedených důvodů je nutno stanovení koncentrace kyslíku provést ihned v terénu, nebo alespoň provést fixaci vzorku pomocí činidel, která jsou součástí Combi soupravy a takto upravený vzorek předat do laboratoře.

Poznámka: - Jak již bylo uvedeno výše, deficit kyslíku bývá často příčinou havarijního úhynu ryb. Je však téměř pravidlem, že jeho koncentrace není při terénním šetření stanovena, ani nejsou odebrány a fixovány vzorky pro jeho stanovení. Poté se bezvýsledně hledají další možné příčiny úhynu ryb (provádějí se zbytečně biologické zkoušky toxicity vody, případně finančně náročné analýzy vody, které nevedou k žádným závěrům).

Související přepočty:

V některých případech se může stát, že budete potřebovat naměřené absolutní hodnoty koncentrace rozpuštěného kyslíku přepočítat na nasycení vody kyslíkem.

Přepočet koncentrace rozpuštěného kyslíku na % nasycení provádíme za pomoci tabulkových hodnot (tab.1).

Příklad: Vypočtete % nasycení vody kyslíkem a kyslíkový deficit, jestliže byla zjištěna koncentrace $6,5 \text{ mg.l}^{-1}$ a teplota vody je $16 \text{ }^\circ\text{C}$.

Postup:

Z tabulky vyplývá, že za daných podmínek činí rovnovážná koncentrace kyslíku $10,03 \text{ mg.l}^{-1}$.

$$\% \text{ nasycení} = \frac{6,5}{9,86} \cdot 100$$

$$\% \text{ nasycení} = 65,9 \%$$

$$\begin{aligned} \text{kyslíkový deficit D: } D &= 100 - 65,9 \\ D &= \underline{34,1 \%} \end{aligned}$$

Tab. 1: Rozpustnost kyslíku ve vodě, která je ve styku se vzduchem nasyceným vodní párou (Pitter, 1999).

Teplota vody (°C)	Rozpustnost (mg.l ⁻¹)	Teplota vody (°C)	Rozpustnost (mg.l ⁻¹)
0	14,63	20	9,08
2	13,84	22	8,74
4	13,11	24	8,42
6	12,45	26	8,12
8	11,84	28	7,84
10	11,28	30	7,57
12	10,77	35	6,98
14	10,29	40	6,47
16	9,86		
18	9,46		

Interpretace výsledků

Naměřené hodnoty koncentrace rozpuštěného kyslíku ve vodě se porovnávají s požadavky jednotlivých druhů ryb. Velmi náročné jsou ryby lososovité s požadavkem na optimální koncentraci kyslíku ve vodě v rozmezí 8 – 10 mg.l⁻¹ O₂; při poklesu koncentrace kyslíku pod 3 mg.l⁻¹ O₂ lze u těchto ryb pozorovat příznaky dušení. Optimální koncentrace kyslíku ve vodě pro méně náročné ryby kaprovité se pohybuje v rozmezí 6 – 8 mg.l⁻¹ O₂ a příznaky dušení pozorujeme u těchto druhů ryb při poklesu koncentrace kyslíku na hodnoty 1,5 až 2 mg.l⁻¹ O₂ (Svobodová et al., 2003, Svobodová et al., 2008).

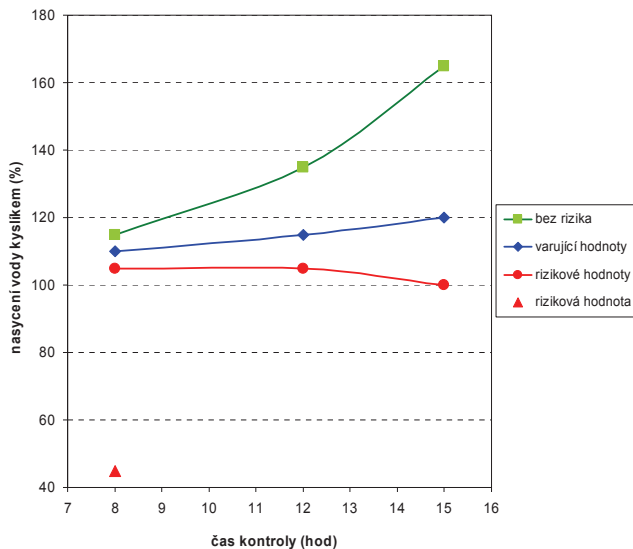
Pravděpodobnost výskytu kyslíkového deficitu se zvyšuje zejména:

- v letním období při dlouhotrvajících vysokých teplotách
- při kontaminaci vodního prostředí lehce odbouratelnými organickými látkami (vnik splaškových odpadních vod, kejdy, silážních šťáv apod.)
- v eutrofních a hypertrofních nádržích při silném vegetačním zákalu (noční deficity kyslíku - deficit kyslíku očekáváme zejména tehdy, když za slunečného počasí v poledních hodinách zjišťujeme silné přesycení vody kyslíkem. Hrozící riziko kyslíkového deficitu lze odhadnout podle grafu 1)
- při přemnožení perloočkového zooplanktonu (zejména dafnia, bosmína)
- při rozkladu vodních květů sinic a při rozkladu ponořené vodní vegetace (větších zárostů – i pod ledem)
- při výloveh (zejména při výloveh prováděných v letním období při vyšších teplotách vzduchu)
- při transportu ryb
- při zamrznutí hladiny nádrží a současným dlouhodobým pokrytím sněhem

Důležité! Při hrozícím kyslíkovém deficitu je třeba přestat s krmením ryb, neboť ryby s naplněným zažívacím traktem mají výrazně vyšší nároky na spotřebu kyslíku.

V letním období, zejména v hlubších rybnících, se objevuje tzv. „letní stratifikace“, což je rozvrstvení vody podle její hustoty, která souvisí s teplotou vody. Svrchní vrstva vody (epilimnion) je od spodní vrstvy (hypolimnion) oddělena tzv. „skočnou“ vrstvou (metalimnion) (Ambrožová, 2003). Jednotlivé vrstvy vody mají rozdílné parametry kvality a liší se zejména teplotou, koncentrací kyslíku a hodnotami pH. Jestliže chceme znát skutečné kyslíkové poměry v nádrži, je nutno proměřit koncentrace kyslíku v celém vodním sloupci.

Graf 1. Odhad rizika vzniku kyslíkového deficitu (Faina et al., 2007).



Poznámka: poměrně často se rybáři snaží zlepšit kyslíkové poměry v rybníce zvýšením přítoku vody, avšak většina rybníků se správným rybářským obhospodařováním nepotřebuje k zajištění dobrého kyslíkového režimu přítok vody. (Silný průtok vody naopak z rybníka vyplavuje přirozenou potravu ryb).

II.2.2 Hodnota pH

Hodnota pH významně ovlivňuje chemické a biochemické procesy ve vodách a rovněž formy výskytu řady látek ve vodách přítomných, a tím i jejich rozpustnost a toxicitu. Z parametrů, které jsou důležité zejména pro rybáře, nutno jmenovat alespoň amoniak, hliník, železo a kyanidy. V těchto případech je hodnota pH vody natolik významná, že bez její znalosti nelze vůbec odhadovat potenciální nebezpečí, které rybám a dalším vodním organismům hrozí při výskytu těchto látek ve vodě. Proto je stanovení hodnoty pH nezbytnou součástí každého chemického rozboru vody (Pitter, 1999, Svobodová et al., 1992, Svobodová et al., 2008).

V čistých přírodních vodách (povrchových a prostých podzemních) je hodnota pH v rozmezí asi od 4,5 do 9,5 dána obvykle uhlíkatovou rovnováhou. Hodnotu pH vody však

mohou ovlivňovat i huminové látky nebo kationty snadno podléhající hydrolyze (např. hliník, železo).

Povrchové vody, s výjimkou vod z rašelinišť a acidifikovaných vod nádrží a jezer, mívají hodnoty pH v rozmezí od 6,0 do 8,5. V úživných nádržích bývá posun do alkalických oblastí nad 8 způsoben intenzivní fotosyntetickou asimilací, při které je z vody odčerpáván volný oxid uhličitý. V těchto případech se hodnoty pH mohou zvýšit na 10 až 11. Naopak, relativně nízké hodnoty vykazují vody z rašelinišť, které obsahují huminové látky a málo mineralizované acidifikované vody některých nádrží a jezer. Nízké hodnoty lze také očekávat v jarním období při tání sněhu (Pitter, 1999).

V letním období (zejména za silnějšího vegetačního zákalu), musíme počítat s tím, že se hodnoty pH mění během dne a noci. Za slunečního záření, kdy probíhá intenzivní fotosyntetická asimilace, se hodnoty pH zvyšují, zejména ve vrstvě, kam proniká světlo. Naopak ve větších hloubkách a podobně i v nočních hodinách, kdy probíhá disimilace (dýchání) a voda je obohacována oxidem uhličitým, nalézáme hodnoty nižší. K rychlým poklesům hodnot pH (např. z 10 na 7) dochází i při náhlém zvýšení průhlednosti v důsledku rozvoje dafniového zooplanktonu.

V intenzivních chovech ryb s recirkulací vody, kde se využívá proces nitrifikace k odstraňování amoniaku - toxického metabolitu ryb, dochází k postupnému poklesu pH (samotný proces nitrifikace je toho příčinou). V těchto zařízeních je nutné pH pravidelně sledovat a upravovat na hodnoty pH 6 až 6,5 např. mletým vápencem. Pokud hodnoty pH poklesnou pod tuto úroveň, dojde k inhibici nitrifikace a tím k postupnému zvyšování koncentrace amoniaku a dusitanů ve vodě (Kroupová et al., 2005).

Interpretace výsledků

Naměřené hodnoty se porovnávají s nároky jednotlivých druhů ryb. Obecně platí, že ryby kaprovitě jsou citlivější k nízkým hodnotám pH a ryby lososovitě jsou více citlivé k vyšším hodnotám pH. Poškození a úhyny ryb lze pozorovat u lososovitých (hlavně pstruha obecného) při pH nad 9,2 a pod 4,8 a u ryb kaprovitých (zejména kapra a lina) při pH nad 10,8 a pod 5,0 (Svobodová et al., 1987).

Pokud budeme posuzovat bezpečnost naměřených vyšších hodnot pH (zejména nad 8,5 a při teplotách nad 10 °C), je nutné tak činit s ohledem na aktuální koncentraci celkového amoniaku ve vodě. Za výše uvedených podmínek již musíme počítat s tím, že podíl volného (pro ryby toxického) amoniaku se pohybuje na úrovni desítek procent z jeho celkové koncentrace a při koncentracích celkového amoniaku na úrovni desetin mg.l^{-1} se mohou projevit jeho toxické až akutně letální účinky. (Podrobnější vysvětlení viz kapitola Amoniak).

Poznámka: Nutno také počítat s tím, že změna hodnoty pH, která sama o sobě nemusí představovat pro vodní organismy žádné významné nebezpečí, může změnit formu výskytu některých látek, a tím významně poškodit vodní organismy a dokonce vyvolat i jejich havarijní úhyn.

II.2.3 Kyselinová neutralizační kapacita (dříve alkalita)

Kyselinová neutralizační kapacita (KNK) je schopnost vody vázat vodíkové ionty. Jedná se o látkové množství silné jednosytné kyseliny v mmol, které spotřebuje 1 litr vody k dosažení určité hodnoty pH. Výsledná hodnota KNK charakterizuje schopnost vody vyrovnávat se do určité míry s kyselými vodami, aniž dojde k významnému poklesu pH vody.

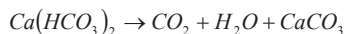
U přírodních vod, kde je tlumivá kapacita dána uhličitánovým systémem, se titrace provádí do dvou bodů ekvivalence, a to do pH 4,5 a do pH 8,3 (Pitter, 1999). Pokud má voda

hodnotu pH vyšší než 8,3, vykazuje tzv. zjevnou alkalitu (KNK_{8,3}). Pokud je třeba tuto hodnotu stanovit, je nutno se obrátit na hydrochemickou laboratoř. (Postup stanovení spočívá v titraci vzorku vody kyselinou chlorovodíkovou na indikátor fenolftalein, který není obsažen v soupravě).

Je známo, že KNK vody úživných rybníků s postupující vegetací stoupá. Je to způsobeno tím, že volný (přebytečný) CO₂ rozpouští sloučeniny vápníku v rybníční půdě a převádí tento „disponibilní“ vápník do vody ve formě rozpustných hydrogenuhličitanů:



V případě, že volný CO₂ je v nadbytku, chová se „agresivně“ na různé materiály (beton, ocel), a tím je porušena „uhličitanová rovnováha“. Ta má v povrchových vodách velký význam, a to nejen z hlediska vodo hospodářských staveb, ale i pro chov ryb. Pro chov ryb je nebezpečný nedostatek volného CO₂, ke kterému může dojít v důsledku odčerpání intenzivní fotosyntetickou asimilací. Pokud je CO₂ vyčerpán i z hydrogenuhličitanů, dochází k „vypadávání“ (srážení) nerozpuštěného CaCO₃ z vody podle rovnice:



V důsledku výše uvedené reakce dochází k posunu hodnot pH vody do alkalických oblastí. Naopak, při zvyšování koncentrace CO₂ (respirační organismů) dochází ke snižování hodnot pH vody.

V rybářské praxi se hodnota KNK_{4,5} používá k odhadu potřeby vápnění dle tabulky 2:

Tab. 2: Výpočet potřebné dávky mikromletého vápence (Čítek et al., 1998)

KNK _{4,5} vody (alkalita) mmol.l ⁻¹	Dávka mikromletého vápence při průměrné hloubce rybníka 1 m (t.ha ⁻¹)	
	plná dávka (duben – květen)	snížená dávka (další období)
méně než 0,5	1 - 2	0,6 - 1
0,5 – 1	0,6	0,4
1,1 – 1,5	0,3	0,2
1,6 – 2	0,1	0
nad 2	0	0

Poznámka: Hodnoty v tabulce je nutno brát jako orientační, neboť zásoby vápníku mohou být deponovány i ve dně a uvolňují se až při oteplení vody a sedimentů. Využitelná zásoba vápníku ve dně se nejlépe pozná ze spojnic hodnot KNK_{4,5} naměřených v průběhu vegetační sezony (květen, červenec a září). Pokud má spojnice stoupající trend a dosáhne hodnot nad 1,5 mmol.l⁻¹, je zásoba vápníku dostatečná.

II.2.4 Amoniakální dusík

Amoniakální dusík (amoniak) je primárním produktem rozkladu organických dusíkatých látek živočišného a rostlinného původu. Proto antropogenním zdrojem amoniakálního dusíku organického původu jsou především splaškové odpadní vody a odpady ze zemědělských výroby. Antropogenním zdrojem amoniakálního dusíku anorganického

původu jsou především dusíkatá hnojiva, která se infiltrací a splachem ze zemědělsky obdělávaných ploch dostávají do vod podzemních i povrchových (Pitter, 2009).

Amoniak je také hlavním metabolickým produktem ryb, zooplanktonu a dalších vodních organismů, takže musíme počítat s jeho výskytem zejména v intenzivních chovech ryb v rybnících i v recirkulačních systémech. V případě, že je technologie chovu ryb a biologického čištění vody dobře zvládnuta, je amoniak vylučovaný rybami v biochemickém procesu nitrifikace přeměňován na dusitany a následně na dusičnany, které nejsou pro ryby toxické. Obdobně probíhají nitrifikační procesy v rybníční vodě, kde je část amoniaku metabolizována fytoplanktonem a vyššími vodními rostlinami. Proto lze říci, že v běžných rybníčních vodách vysoké koncentrace amoniaku nenacházíme. Naproti tomu, v rybnících s vysokou trofickou úrovní a velkým množstvím organické hmoty, se koncentrace amoniakálního dusíku zvyšují v důsledku jejího rozkladu. Nejvíce nebezpečný je z tohoto hlediska rozklad vysoké biomasy vodního květu sinic, kdy koncentrace amoniakálního dusíku mohou dosáhnout i 2 mg.l⁻¹. V takových případech můžeme zaznamenat i koncentrace pohybující se na úrovni jednotek mg.l⁻¹ celkového amoniaku.

Amoniak se ve vodách vyskytuje ve dvou formách, a to ve formě disociované (NH₄⁺), která není pro ryby výrazně toxická a ve formě nedisociované „volné“ (NH₃), která je pro ryby silně toxická. O tom, která z těchto forem ve vodě převažuje, rozhodují především hodnoty pH a teploty vody.

Na tomto místě je třeba upozornit na skutečnost, že v laboratorních protokolech o výsledcích chemických analýz vody jsou výsledky běžně uváděny jako NH₃ nebo jako NH₄⁺, (případně N-NH₃ nebo N-NH₄⁺), ale vždy se ve skutečnosti jedná o celkovou koncentraci NH₃ + NH₄⁺ (nebo N-NH₃ + N-NH₄⁺). Obdobně získáme informaci o celkové koncentraci amoniaku rozбором při použití metod, které poskytuje Combi souprava. Proto, pokud chceme zjistit, do jaké míry je změřená koncentrace amoniaku ve vodě nebezpečná pro chov ryb, musíme mít k dispozici údaje o teplotě vody a hodnotě pH a koncentraci volného amoniaku dopočítat dále uvedeným způsobem.

Příklad:

Pokud naměříme koncentraci celkového amoniaku 1,7 mg.l⁻¹, při teplotě vody 20 °C a hodnotě pH 8,6, koncentraci volného amoniaku vypočteme následujícím způsobem:

1) Z tabulky 3 zjistíme, jaký podíl volného amoniaku z celkového amoniaku je za daných podmínek (odečteno z tabulky: 13,02 – tedy podíl volného amoniaku z celkového tvoří za daných podmínek 13,02 %).

2) užitím přímé úměry zjistíme koncentraci volného amoniaku:

$$\begin{array}{l} 100 \% \dots\dots\dots 1,7 \text{ mg.l}^{-1} \\ 13,02 \% \dots\dots\dots x \text{ mg.l}^{-1} \end{array}$$

$$x = \frac{1,7 \cdot 13,02}{100} = 0,22 \text{ mg.l}^{-1}$$

3) koncentrace volného amoniaku činí 0,22 mg.l⁻¹.

Poznámky k výpočtu: a) Při tomto způsobu výpočtu jsme se vědomě dopustili drobné chyby, neboť jsme zanedbali rozdíl v molárních hmotnostech NH₄⁺ (18) a NH₃ (17). Výsledný rozdíl

je natolik zanedbatelný, že není třeba se tímto problémem zabývat a při výpočtech používat tento postup.

b) Pokud by koncentrace celkového amoniaku byla vyjádřena jako N-NH_4^+ (amoniakální dusík), potom by přepočet probíhal stejným způsobem, ale výslednou hodnotou by byla koncentrace amoniakálního dusíku N-NH_3 (i zde jsme pominuli rozdíly v molárních hmotnostech mezi NH_3).

Tab. 3: Závislost obsahu NH_3 v procentech veškerého amoniaku na pH a teplotě vody (Pitter, 1981)

pH	t °C					
	0	5	10	15	20	25
7.0	0.082	0.12	0.175	0.26	0.37	0.55
7.2	0.13	0.19	0.28	0.41	0.59	0.86
7.4	0.21	0.30	0.44	0.64	0.94	1.36
7.6	0.33	0.48	0.69	1.01	1.47	2.14
7.8	0.52	0.75	1.09	1.60	2.32	3.35
8.0	0.82	1.19	1.73	2.51	3.62	5.21
8.2	1.29	1.87	2.71	3.91	5.62	8.01
8.4	2.02	2.93	4.23	6.06	8.63	12.13
8.6	3.17	4.57	6.54	9.28	13.02	17.95
8.8	4.93	7.05	9.98	13.95	19.17	25.75
9.0	7.60	10.73	14.95	20.45	27.32	35.46
9.2	11.53	16.00	21.79	28.95	37.33	46.55
9.4	17.12	23.19	30.36	39.23	48.56	57.99
9.6	24.66	32.37	41.17	50.58	59.94	68.63
9.8	34.16	43.14	52.59	61.86	70.34	77.62
10.0	45.12	54.59	63.74	71.99	78.98	84.60
10.2	56.58	65.58	73.59	80.29	85.63	89.70
10.4	67.38	75.12	81.54	86.59	90.42	93.24
11.0	89.16	92.32	94.62	96.26	97.41	98.21

Interpretace výsledků:

V povrchových vodách koncentrace celkového amoniaku obvykle nepřevyšují 1 mg.l^{-1} . Naproti tomu ve vodách splaškových nacházíme řádově desítky mg.l^{-1} , mimořádně vysoké koncentrace amoniaku lze nalézt v některých průmyslových odpadních vodách a v odpadech ze zemědělství. To znamená, že koncentrace amonických iontů je významná z hlediska indikace znečištění vody živočišnými odpady. V pitné vodě je mezní hodnota pro koncentraci amoniaku $0,5 \text{ mg.l}^{-1} \text{ NH}_4^+$, stejná hodnota se uvádí jako přípustná hodnota imisního standardu pro vody lososové i kaprové (Pitter, 2009).

Z hlediska chovu ryb jsou důležité koncentrace volného amoniaku (NH_3). Pro ryby kaprovité se uvádí jako nejvýše přípustné koncentrace $0,05 \text{ mg.l}^{-1} \text{ NH}_3$, pro lososovité $0,01 \text{ mg.l}^{-1}$ (Svobodová et al., 1987). Akutně letální koncentrace volného amoniaku se pohybují

řádově v jednotkách mg.l^{-1} NH_3 , k poškození ryb dochází při dlouhodobější expozici ryb volnému amoniaku v koncentracích již na úrovni desetin mg.l^{-1} . Vezmeme-li v úvahu, že při teplotách kolem 20°C a hodnotách $\text{pH} > 9$ se podíl toxického amoniaku pohybuje na úrovni 30 a více %, mohou být i koncentrace v desetinách mg.l^{-1} celkového amoniaku pro ryby nebezpečné. V těchto případech nemusí dojít k akutním úhynům ryb, ale „pouze“ k narušení žaberního epitelu. V důsledku toho dochází k omezení příjmu potravy (a tím i přírůstků ryb) a problémy mohou nastat i při letních odlovech, kdy se ryby nestahují ke krmišti. Významnou roli v toleranci ryb vůči amoniaku hraje koncentrace rozpuštěného kyslíku (při vyšších koncentracích rozpuštěného kyslíku jeví ryby vůči amoniaku vyšší toleranci) (Svobodová et al., 1987).

I když koncentrace volného amoniaku ve vodě nedosahuje uvedených kritických hodnot, může dojít k poškození ryb v důsledku „autointoxikace“ amoniakem. K tomuto procesu dochází např. při náhlém poklesu teploty vody, při poklesu koncentrace rozpuštěného kyslíku nebo při vysokých hodnotách pH vody, kdy ryby nejsou schopny z těla vylučovat metabolický produkt – amoniak.

II.2.5 Fosfor

Sloučeniny fosforu hrají významnou úlohu v přírodním koloběhu látek. Jsou nezbytné pro vyšší i nižší organismy, které je přeměňují na organicky vázaný fosfor. Po úhynu organismů a jejich následném rozkladu se fosforečnany opět uvolňují do prostředí. Fosforečnany se významně sorbují na dnových sedimentech a naopak, za určitých podmínek (snížení hodnot pH a deficit kyslíku) dochází opět k uvolňování fosforu do kapalné fáze. V takových případech lze zjistit ve vrstvě vody nad dnovým sedimentem poměrně vysoké koncentrace fosforu (i nad 1 mg.l^{-1}). Bohatě na fosforečnany jsou také vody z rašelinišť. Zdrojem fosforu je v tomto případě rozklad rostlinné biomasy. Podstatně vyšší koncentrace fosforu se nacházejí ve splaškových odpadních vodách. Ve všech těchto případech však mluvíme o celkovém (tedy anorganicky i organicky vázaném) fosforu. V souvislosti s fosforem se můžeme rovněž setkat s pojmem biologicky dostupný fosfor. Jedná se jednak o rozpuštěné ortofosforečnany, jednak o fosforečnany adsorbované na povrchu nerozpuštěných látek. Ukázalo se, že fytoplankton je schopen ke svému růstu využívat obě tyto formy fosforu (Pitter, 2009).

Pomocí Combi soupravy se stanoví ortofosforečnanový fosfor a spolu s ním také část orthofosforečnanů vázaných v komplexech a někdy i část fosforu vázaného labilními vazbami v některých anorganických a organických sloučeninách.

Interpretace výsledků

Fosforečnany se vyskytují ve vodách jen ve velmi nízkých koncentracích (řádově v setinách až desetinách mg.l^{-1}). Zvláště nízká koncentrace fosforečnanů bývá ve vodách nádrží a rybníků v letním období, neboť fosforečnany se uplatňují při růstu řas a sinic (Pitter, 2009).

Poznámka: Vzhledem k tomu, že formy výskytu fosforu se mění, není možno posuzovat trofickou úroveň vody jen na základě tohoto stanovení, nebo dokonce aplikovat fosforečná hnojiva na jeho doplnění při zjištění pouhého stopového množství nebo úplné absence fosforečnanů. K takovému kroku lze přistoupit až na základě analýzy celkového fosforu, která se provádí v laboratoři po mineralizaci vzorku vody.

II.2.6 Dusitany

Dusitany zpravidla doprovázejí ve vodách dusičnany a formy amoniakálního dusíku. Vzhledem ke své chemické a biochemické labilitě se obvykle vyskytují ve velmi malých koncentracích (obvykle v setinách až desetínách mg.l^{-1}).

Řádově vyšší koncentrace (i přes 1 mg.l^{-1}) se vyskytují ve splaškových odpadních vodách. Ještě vyšší koncentrace dusitanů lze nalézt v některých odpadních vodách ze strojírenských závodů (v odpadních vodách z povrchové a tepelné úpravy kovů a obrábění – odpadní vody odtékající z některých lázní v kalárnách a z lázní používaných pro oxidaci železných předmětů, tzv. černění). V dílčích odpadních vodách z těchto provozů lze prokázat i stovky mg.l^{-1} dusitanového dusíku.

Dusitany jsou ve vodách velmi nestálé. Mohou být biochemicky i chemicky oxidovány nebo redukovány. Velmi snadná je biochemická oxidace (nitrifikace) probíhající ve vodách v aerobních podmínkách. V anaerobních podmínkách přichází v úvahu biologická denitrifikace na elementární dusík, resp. N_2O . Proto lze dusitany často prokázat v nízkých koncentracích jako meziprodukt chemických a biochemických transformací sloučenin dusíku (Pitter, 2009).

Zvýšené koncentrace dusitanů (řádově desetiny, ale i jednotky mg.l^{-1} N-NO_2^-) se mohou vyskytovat ve vodách v intenzivních chovech ryb, zejména v recirkulačních systémech (Kroupová, 2005).

Interpretace výsledků

Z výše uvedeného vyplývá, že v běžných povrchových vodách by koncentrace dusitanů neměly přesáhnout desetiny mg.l^{-1} . Pokud nalezneme koncentrace blízké se jednomu mg.l^{-1} , svědčí to buď o špatných kyslíkových poměrech v nádrži nebo o kontaminaci odpadními vodami s vyšším obsahem dusitanů. Pokud nalezneme vyšší koncentrace dusitanů (hodnoty blízké se jedné nebo řádově jednotky mg.l^{-1}) ve vodách recirkulačních systémů s intenzivním chovem ryb, svědčí to o špatné funkci čisticí jednotky a o tom, že proces nitrifikace (biochemický proces, při kterém dochází k oxidaci amoniaku na dusitany a následně na dusičnany), neprobíhá až do konečné fáze a zastavuje se ve fázi přeměny amoniaku na dusitany. Tento stav se objevuje zejména při zahájení provozu rybochovného zařízení, kdy ještě není dostatečně „zapracován“ biologický filtr.

Dusitany jsou pro ryby toxické již v nízkých koncentracích. Konkrétní hodnoty však nemá smysl uvádět, neboť citlivost ryb vůči dusitanům závisí na řadě faktorů. K těm nejvýznamnějším patří kvalita vody - zejména koncentrace chloridů. Pokud se v chovech ryb objeví vyšší koncentrace dusitanů (nebo jejich výskyt předpokládáme), je třeba zjistit koncentraci chloridů ve vodě (stanovení není součástí soupravy – analýzu je třeba provést v laboratoři). Jestliže se koncentrace chloridů pohybuje na nízké úrovni (do $10 - 50 \text{ mg.l}^{-1}$), je vhodné do vody aplikovat kuchyňskou sůl (100 až 200 mg.l^{-1} NaCl) jako zdroj chloridů, a tím preventivně zvýšit odolnost ryb vůči dusitanům.

Ryby poškozené dusitany se vyznačují hnědým zbarvením žaber a krve (důsledek přítomnosti methemoglobinu v krvi, který vzniká oxidací hemoglobinu dusitany).

Pozn.: Nitrifikací se rozumí biochemická oxidace amoniakálního dusíku na dusitany až dusičnany. Je způsobena především autotrofními a výjimečně i organotrofními organismy. Chemolitotrofní nitrifikační bakterie využívají CO_2 jako zdroj uhlíku pro tvorbu biomasy a zdrojem energie je oxidace amoniakálního dusíku. Rozlišují se dva druhy nitrifikačních bakterií: *Nitrosomonas* (podílí se na prvním stupni oxidace – na dusitany) a *Nitrobacter* (podílí se na oxidaci dusitanů na dusičnany). *Nitrobacter* má vyšší růstovou rychlost ve srovnání s *Nitrosomonas*, a proto se dusitany obvykle nemohou hromadit a jejich koncentrace bývá velmi nízká. Nitrifikační bakterie jsou v přírodě velmi rozšířeny, mají tendenci ulpívat na různých površích, a proto se hromadí ve dnových sedimentech, v půdě a v nerozpuštěných látkách ve vodě. Nitrifikace probíhá velmi snadno v dobře prokyslíčených vodách (Pitter, 2009).

II.2.7 Průhlednost

Průhlednost vody představuje množství světla, které proniká vodním sloupcem. Je závislá na barvě a zákalu vody. Mírou průhlednosti je výška sloupce vody, při které přestane být viditelná bílá deska nebo písmo určitých rozměrů. K měření průhlednosti vody se používá Seccioho deska.

Průhlednost vody je informace, která signalizuje intenzitu zákalu v horních vrstvách vody, a tedy hustotu partikulí ve vodě. Původ těchto partikulí (a tedy příčina zákalu) je dvojitý – buď jde o neživé částičky z půdní eroze, zvířené sedimenty a podobně, nebo se jedná o živé organismy – především o řasy a sinice (tzv. vegetační zákal). U rybníků s většími obsádkami kapra (v důsledku rytí ve dně) se vyskytuje zákal, který je vegetačního i abiotického původu. Po prudkých deštích se v rybnících objevuje zákal abiotického původu v důsledku splachů. Změna průhlednosti však nastává i působením silného větru, který promíchá horní vrstvu vody v nádrži a poruší původní rozložení mikroorganismů ve vodě (např. při bouřkách).

Interpretace výsledků

Průhlednost vody je parametr velmi snadno a rychle stanovitelný a navíc nám poskytuje důležité informace. U vysoce eutrofních (poly- až hypertrofních) rybníků doporučujeme měřit průhlednost vody – zejména v jarním období - častěji (jednou i dvakrát týdně), neboť, jak je níže uvedeno, vývoj průhlednosti může signalizovat důležité změny v chemismu vody. Zelený zákal a snižující se průhlednost signalizuje zvyšování hodnot pH, naopak, rychle se zvyšující průhlednost, možnost vzniku kyslíkového deficitu.

Běžné hodnoty průhlednosti vody v rybnících by se ve vegetačním období měly pohybovat řádově v desítkách cm.

Průhlednost vody se může výrazně změnit i během několika dnů, zejména za teplých dnů počátkem léta, kdy dochází v eutrofních nádržích k rychlému rozvoji sinic a řas. Další rychlá změna může nastat v momentě, kdy dojde ke snížení vyžíracího tlaku rybí obsádky (příčinou může být úhyn části obsádky, narušení jejího zdravotního stavu nebo kombinace obou faktorů). Ryby potom neregulují svým vyžíracím tlakem rozvoj hrubého zooplanktonu. Zooplankton se přemnoží a velmi rychle redukuje množství fytoplanktonu. To se projeví zvyšováním průhlednosti vody (např. během několika dnů z původních např. 20 – 30 cm na hodnoty vyšší než 1 m). V takovém případě je třeba se zaměřit na kontroly rozpuštěného kyslíku, neboť hrozí vznik kyslíkového deficitu. Kyslíkový deficit se dostavuje v důsledku přemnožení filtrujícího zooplanktonu (dýcháním spotřebovává kyslík a navíc produkuje amoniak) a redukce producentů kyslíku (fytoplanktonu). V těchto případech lze tedy pouhým stanovením průhlednosti vody zaznamenat potenciální riziko vzniku kyslíkového deficitu. Pokud se jedná o rybník s vysokou průhledností vody a současně dobrými kyslíkovými poměry, obvykle se jedná o stav, kdy se na jeho dně vytvoří zárosty vláknitých řas nebo ponořených rostlin.

III. SROVNÁNÍ „NOVOSTI POSTUPŮ“

Combi souprava slouží odborné veřejnosti již desítky let (Janeček, 1953). Ta současná respektuje požadavky zákona č.356/2003 Sb., o chemických látkách a dále přináší možnost stanovení dusitanů, což pravděpodobně uvítají chovatelé ryb v recirkulačních systémech. Nově je k soupravě Combi zpracována metodika jejího použití, která umožňuje i laické veřejnosti se soupravou pracovat a hlavně získané výsledky analýz posuzovat ve vztahu k vhodnosti podmínek chovu ryb.

IV. POPIS UPLATNĚNÍ METODIKY

Metodika je určena především chovatelům ryb v rybníčních akvakulturách i v intenzivních chovech (v recirkulačních systémech), ale i akvaristům. Stejně dobře však poslouží pracovníkům referátů životního prostředí či policie a hasičům – tedy všem, kteří se při své profesi setkávají s vodohospodářskou tematikou, s problémy kontaminace vody, havarijních úhynů ryb apod. Soupravu s metodikou lze doporučit i školám se zaměřením na studium přírodovědných a ekologických disciplín. Znalost kyslíkových poměrů a hodnot pH v nádržích a rybnících je důležitá i pro úspěšné provozování sportovního rybolovu, proto mohou soupravu využívat i sportovní rybáři.

Výhodou soupravy Combi je jednoduchost, a tedy i snadná použitelnost metod, které umožňují pracovat v terénu a získávat tak základní informace o kvalitě vody přímo na místě odběru. Používat Combi soupravu může každý, kdo projde krátkým zaškolením a získá potřebné nejjednodušší pracovní návyky. Souprava Combi doplněná o metodiku umožňuje nejen získat základní informace o kvalitě vody přímo v terénu, ale také je vyhodnotit a odhadnout další vývoj kvality vody a případná rizika, která mohou v chovech ryb nastat.

Poděkování:

Tato práce byla provedena za finanční podpory výzkumného záměru VÚRH JU MSM 6007665809 a projektů NAZV QH 82117 a MŽP SP/2e7/67/08 .

V. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Ambrožová, J., 2003. Aplikovaná a technická hydrobiologie. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 226 s.
- Čítek, J., Svobodová, Z., Tesarčík, J., 1998. Nemoci sladkovodních ryb. Informatorium Praha, 218 s.
- Faina, R., Máchová, J., Svobodová, Z., Kroupová, H., Valentová, O., 2007. Použití přípravku Diazinon 60 EC v rybníkářské praxi k tlumení nadměrného rozvoje hrubého dafního zooplanktonu. Edice metodik VÚRH Vodňany, č. 80, 18 s.
- Horáková, M., Lischke, P., Grünwald, A., 1986. Chemické a fyzikální metody analýzy vod. SNTL Praha, 389 s.
- Horáková, M. et al., 2003. Analytika vody. VŠCHT Praha, 335 s.
- Janeček, V., 1953. Návrh metod ke stanovení kyslíku, alkality, fosforu, amoniakového dusíku a draslíku ve vodě, zjednodušených pro praktickou potřebu rybníčního hospodáře. Závěrečná zpráva č. 250800. Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický Vodňany, 47 s.
- Kroupová, H., Máchová, J., Svobodová, Z., 2005. Dusitany ve vodním prostředí a jejich účinky na ryby – přehled. Bulletin VÚRH Vodňany, 41 (4): 154-170.
- Luký, L., 1986. Péče o zdraví a prevence chorob ryb. MZVŽ ČSR a ÚV ČSR, Praha, 188 s.
- Pitter, P., 1981. Hydrochemie, SNTL Praha, 376 s.
- Pitter, P., 1999. Hydrochemie. Vydavatelství VŠCHT Praha, 568 s.
- Pitter, P., 2009. Hydrochemie, Vydavatelství VŠCHT Praha, 579 s.
- Svobodová, Z., Gelnarová, J., Justýn, J., Krupauer, V., Máchová, J., Šimanov, L., Valentová, V., Vykusová, B., Wohlgemuth, E., 1987. Toxikologie vodních živočichů. SZN Praha, 231 s.
- Svobodová, Z., Máchová, J., Vykusová, B. et al., 1992. Havarijní a dlouhodobé znečištění povrchových vod (skripta). VÚRH, Vodňany, 180 s.
- Svobodová, Z., Máchová, J., Veselý, J., Modrá, H., Svoboda, M. et al., 2003. Veterinární toxikologie. Praktická cvičení, část I. VFU Brno, 179 s.
- Svobodová, Z., Máchová, J., Kroupová, H., 2008. Otravy ryb. In: Veterinární toxikologie v klinické praxi. Ed. Svobodová, Z., Profi Press Praha, 201-217.

VI. SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE

- Faina, R., Máchová, J., Svobodová, Z., Kroupová, H., Valentová, O., 2007. Použití přípravku Diazinon 60 EC v rybníkářské praxi k tlumení nadměrného rozvoje hrubého dafního zooplanktonu. Edice metodik VÚRH Vodňany, 80, 18 s.
- Svobodová, Z., Faina, R., 1984. Použití přípravku Soldep v rybářství. Edice metodik VÚRH Vodňany, 12, 15 s.
- Svobodová, Z., Máchová, J., Kroupová, H., 2008. Otravy ryb. In: Veterinární toxikologie v klinické praxi. Ed. Svobodová, Z., Profi Press Praha, 201-217.
- Svobodová, Z., Máchová, J., Vykusová, B. et al., 1992. Havarijní a dlouhodobé znečištění povrchových vod. VÚRH, Vodňany, 180 s.
- Svobodová, Z., Máchová, J., Vykusová, B., Adámek, Z., 1994. Metodické pokyny k vyšetřování havarijního úhynu ryb. ÚZPI Praha, 26 s.

Oponent za státní správu:

Ing. *Vladimír Gall*

MZe ČR

Odbor rybářství, myslivosti a včelařství (16230)

Těšnov 17

117 05 Praha 1

Lektoroval:

Ing. Tomáš Fuka, CSc.

místopředseda Odboru čistoty vod a životního prostředí Městského výboru ČRS Praha

Techneco Praha

Meinlinova 395/11

190 16 Praha 9

Osvědčení o uplatněné certifikované metodice č. 3/5654/2009-16230
ze dne 22. prosince 2009

Vydal: Ministerstvo zemědělství, úsek lesního hospodářství, sekce lesního hospodářství,
odbor rybářství, myslivosti a včelařství, Těšnov 17, 117 05 Praha 1

Adresy autorů:

Olga Valentová (valentov@vurh.jcu.cz), Jana Máchová, Richard Faina, Hana Kroupová,
Zdeňka Svobodová

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Výzkumný
ústav rybářský a hydrobiologický, Zátíší 728, 389 25 Vodňany

V edici Metodik (Technologická řada) vydala Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích,
Fakulta rybářství a ochrany vod, Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický ve Vodňanech
- Náklad: 100 ks, předáno do tisku prosinec 2009 - Technická realizace: PTS spol. s r.o. –
Vodňany.